

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 3 月 18 日 (18.03.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/022543 A1(51) 国際特許分類:
31/4152, A61P 1/00, 43/00

C07D 231/20, A61K

(74) 代理人: 特許業務法人特許事務所サイクス (SIKS & CO.); 〒104-0031 東京都中央区京橋一丁目 8 番 7 号 京橋日殖ビル 8 階 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/011487

(22) 国際出願日: 2003 年 9 月 9 日 (09.09.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-262324 2002 年 9 月 9 日 (09.09.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三菱ウェルファーマ株式会社 (MITSUBISHI PHARMA CORPORATION) [JP/JP]; 〒541-0046 大阪府 大阪市中央区平野町 2 丁目 6 番 9 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 荒木 克夫 (ARAKI, Yoshio) [JP/JP]; 〒520-2101 滋賀県 大津市 青山 6 丁目 13-20 Shiga (JP). 安藤 朗 (ANDOH, Akira) [JP/JP]; 〒525-0045 滋賀県 草津市 若草 6 丁目 4-11 Shiga (JP). 藤山 佳秀 (FUJIYAMA, Yoshihide) [JP/JP]; 〒520-0865 滋賀県 大津市 南郷 2 丁目 41-22 Shiga (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

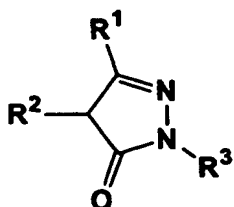
(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PREVENTIVE AND/OR THERAPEUTIC DRUGS FOR INFLAMMATORY INTESTINAL DISEASES

(54) 発明の名称: 炎症性腸疾患の予防及び/又は治療のための医薬



(I)

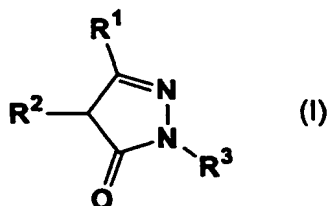
(57) Abstract: The invention provides preventive and/or therapeutic drugs for inflammatory intestinal diseases which contain as the active ingredient pyrazolone derivatives represented by the general formula (I), physiologically acceptable salts thereof, or hydrates or solvates of both: (I) wherein R¹ is hydrogen, aryl, alkyl, or alkoxyalkyl; R² is hydrogen, aryl, arylmercapto, alkyl, or hydroxyalkyl; or R¹ and R² may be united to form alkylene; R³ is hydrogen, alkyl, cycloalkyl, hydroxyalkyl, benzyl, naphthyl, phenyl, or phenyl mono- to tri-substituted with one or more members selected from the group consisting of alkyl, alkoxy, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl, alkylmercapto, alkylamino, dialkylamino, halogeno, trifluoromethyl, carboxyl, cyano, hydroxyl, nitro, amino, and acetamido.

[続葉有]



(57) 要約:

本発明の課題は、炎症性腸疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬を提供することである。本発明によれば、下記式 (I) :



(式中、R¹は、水素原子、アリール基、アルキル基又はアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、アルキル基又はヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同してアルキレン基を表し；R³は、水素原子、アルキル基、シクロアルキル基、ヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又はアルキル基、アルコキシ基、ヒドロキシアルキル基、アルコキシカルボニル基、アルキルメルカプト基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬が提供される。

明細書

炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬

技術分野

本発明は、ピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬、腸粘膜保護剤、好中球の活性化抑制剤、並びにミエロペーオキシダーゼ活性抑制剤に関する。

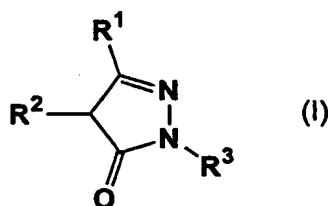
背景技術

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) やクローン病 (Crohn Disease: CD) などの炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) の原因は細菌感染説、自己免疫異常説などの諸説があるものの、現在のところその原因は不明である。しかし文明の発達に比例してその発生率が上昇していることから、ストレスなどの環境因子の関与が示唆されている。その治療に関し、現在のところ潰瘍性大腸炎に対してはサラゾスルファピリジン (Salazosulfapyridine) や5-アミノサリチル酸などのアミノサリチル酸を有効成分とする薬剤の内服、副腎皮質ステロイド (プレドニゾン) の内服、注腸、座薬が中心である。また、時にアザチオプリン (azathioprine) や6-メルカプトプリン (6-mercaptopurine: 6-MP) などの免疫抑制剤が試みられる。一方、クローン病に対しては栄養療法 (成分栄養剤と中心静脈栄養) が主であり、時に副腎皮質ホルモンの内服、サラゾスルファピリジンの内服を追加する。しかし、潰瘍性大腸炎、クローン病ともに治療抵抗性の症例があり、治療薬の副作用の問題もある。これらの難治例、重症例に対しては手術療法が選択されるのが現状である。

デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎 (以下、DSS誘発大腸炎という) はヒト潰瘍性大腸炎モデルとして大腸炎発生メカニズムの研究や大腸炎の治療薬開発に盛んに用いられている。DSS誘発大腸炎発生の機序は明確ではないが、主にデキストラン硫酸ナトリウム自身の毒性によるものと考えられている。最近、

D S S 誘発大腸炎の進展においてフリーラジカルが重要な役割を担っていることが判明した。例えば、Dyken らは浸潤した白血球ミエロパーオキシダーゼ (myeloperoxidase(MPO)) 由来のフリーラジカルがD S S 誘発大腸炎の進展に関与することを示した(Dyken, J.A., et al., Scand J Gastroenterol, 33, 628-636, 1998)。また Hori (Hori, Y., et al., Jpn J Pharmacol, 74, 99-103, 1997) 及び Naito (Naito, Y., et al., Antioxid Redox Signal, 4, 195-206, 2002) らはそれぞれ superoxide dismutase(SOD)やスピントラップ剤がD S S 誘発大腸炎に対して治療効果を示すことを見だし、同じくフリーラジカルがD S S 誘発大腸炎の進展に関与することを示した。更に Blackburn(Blackburn, A.C., et al., Free Radic Biol Med, 25, 305-313, 1998) らはD S S 誘発大腸炎におけるフリーラジカル発生を高速液体クロマトグラフィーにて証明した。一方 Korenaga らはD S S 誘発大腸炎では、フリーラジカル発生だけでなく腸管粘膜のフリーラジカルに対する抵抗性が低下することを見だしている(Korenaga, D., et al., J Surg Res, 144-149, 102, 2002)。

一方、下記式 (I) :



(式中、R¹は水素原子、アリール、炭素数1～5のアルキル又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキルを表し、R²は、水素原子、アリールオキシ、アリールメルカプト、炭素数1～5のアルキル又は1～3のヒドロキシアルキルを表し、あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数3～5のアルキレンを表し、R³は水素原子、炭素数1～5のアルキル、炭素数5～7のシクロアルキル、炭素数1～3のヒドロキシアルキル、ベンジル、ナフチル又はフェニル、又は炭素数1～5のアルコキシ、炭素数1～3のヒドロキシアルキル、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル、炭素数1～3のアルキルメルカプト、炭素数1～4のアルキルアミノ、総炭素数2～8のジアルキルアミノ、ハロゲン原子、トリフルオ

ロメチル、カルボキシル、シアノ、水酸基、ニトロ、アミノ、及びアセトアミドからなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニルを表す。)で表されるピラゾロン誘導体については、医薬の用途として、脳機能正常化作用(特公平5-31523号公報)、過酸化脂質生成抑制作用(特公平5-35128号公報)、抗潰瘍作用(特開平3-215425号公報)、及び血糖上昇抑制作用(特開平3-215426号公報)等が知られている。

また、上記式(I)の化合物のうち、3-メチルー1-フェニルー2-ピラゾリン-5-オンを有効成分とする製剤は、2001年6月以来、脳保護剤(一般名「エダラボン」、商品名「ラジカット」:三菱ウェルファーマ株式会社製造・販売)として上市されている。この「エダラボン」は、活性酸素に対して高い反応性を有することが報告されている(Kawai, H., et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 281(2), 921, 1997;及び Wu, TW. et al., Life Sci, 67(19), 2387, 2000)。このように、エダラボンは活性酸素をはじめとする種々のフリーラジカルを消去することで、細胞障害などを防ぐ働きをするフリーラジカルスカベンジャーである。上述したように、潰瘍性大腸炎の進展にはマクロファージや白血球由来のスーパーオキシドアニオン、ヒドロキシラジカルや過酸化水素などのフリーラジカルの関与が示唆されるものの、エダラボンが炎症性腸疾患に対して有効であるか否かの検討については従来全く報告がない。

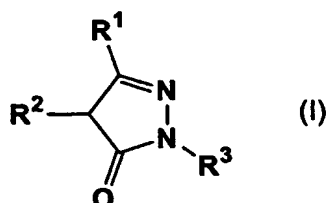
発明の開示

本発明の課題は、炎症性腸疾患の予防及び/又は治療に有用な医薬、腸粘膜保護剤、好中球の活性化抑制剤、並びにミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤を提供することにある。

本発明者らは、上記課題を解決すべく種々の検討を行った結果、式(I)で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物が、デキストラン硫酸ナトリウム大腸炎モデルにおいて大腸炎による粘膜障害面積、あるいは浮腫の程度を示す大腸湿重量を顕著に減少させ、強力な抗大腸炎作用を有することを見出した。本発明は上記の知見を基にし

て完成された。

即ち、本発明によれば、下記式（I）で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬が提供される。



（式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。）

本発明の好ましい態様によれば、式（I）で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリノー5-オン若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物である上記医薬が提供される。

本発明の別の局面によれば、式（I）で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む腸粘膜保護剤、好中球の活性化抑制剤、並びにミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、式（I）で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の予防及び／又は治療有効量をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、炎症性腸疾患の予防及び／又は治療方法、腸粘膜保護方法、好中球の活性化抑制方法、並びに、ミエロパーオキシダーゼ活性の抑制方法が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬、腸粘膜保護剤、好中球の活性化抑制剤、又はミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤の製造のための式（I）で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用が提供される。

図面の簡単な説明

図1（A）は各投与群別の大腸湿重量を示す。図1（B）は各投与群別の障害粘膜面積を示す。

図2は、各投与群別の大腸組織の像（（A）コントロール群（×40）、（B）エダラボン 1mg/kg 投与群（×40）、（C）エダラボン 5mg/kg 投与群（×40）、（D）エダラボン 20mg/kg 投与群（×40））を示す。

図3（A）は各投与群別のダメージスコアを示す。図3（B）は、各投与群別の大腸粘膜ミエロパーオキシダーゼ活性を示す。

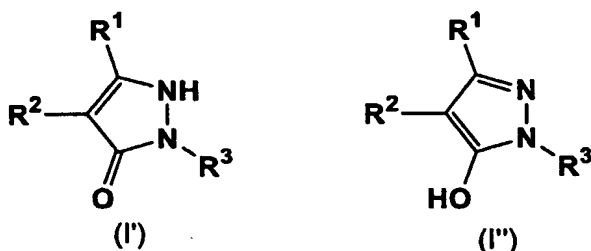
図4（A）は各投与群別の大腸粘膜 MDA、4-HNE 濃度を示す。図4（B）は、各投与群別の血漿中 IL-6 を示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明の炎症性腸疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬、腸粘膜保護剤、好中球の活性化抑制剤、並びにミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤（以下、これらを総称して本発明の医薬という）は、本明細書に定義する式（I）で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を含む。

本発明で用いる式（I）で示される化合物は、互変異性により、以下の式（I'）

又は (I'') で示される構造をもとりうる。本明細書の式 (I) には、便宜上、互変異性体のうちの 1 つを示したが、当業者には下記の互変異性体の存在は自明である。本発明の医薬の有効成分としては、下記の式 (I') 又は (I'') で表される化合物若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を用いてもよい。



式 (I) において、 R^1 の定義におけるアリール基は単環性又は多環性アリール基のいずれでもよい。例えば、フェニル基、ナフチル基などのほか、メチル基、ブチル基などのアルキル基、メトキシ基、ブトキシ基などのアルコキシ基、塩素原子などのハロゲン原子、又は水酸基等の置換基で置換されたフェニル基等が挙げられる。アリール部分を有する他の置換基（アリールオキシ基など）におけるアリール部分についても同様である。

R^1 、 R^2 及び R^3 の定義における炭素数 1~5 のアルキル基は直鎖状、分枝鎖状のいずれでもよい。例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基等が挙げられる。アルキル部分を有する他の置換基（アルコキシカルボニルアルキル基）におけるアルキル部分についても同様である。

R^1 の定義における総炭素数 3~6 のアルコキシカルボニルアルキル基としては、メトキシカルボニルメチル基、エトキシカルボニルメチル基、プロポキシカルボニルメチル基、メトキシカルボニルエチル基、メトキシカルボニルプロピル基等が挙げられる。

R^2 の定義におけるアリールオキシ基としては、p-メチルフェノキシ基、p-メトキシフェノキシ基、p-クロロフェノキシ基、p-ヒドロキシフェノキシ基等が挙げられ、アリールメルカプト基としては、フェニルメルカプト基、p-

メチルフェニルメルカプト基、p-メトキシフェニルメルカプト基、p-クロロフェニルメルカプト基、p-ヒドロキシフェニルメルカプト基等が挙げられる。

R²及びR³の定義における炭素数 1~3 のヒドロキシアルキル基としては、ヒドロキシメチル基、2-ヒドロキシエチル基、3-ヒドロキシプロピル基等が挙げられる。R³の定義における炭素数 5~7 のシクロアルキル基としては、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基等が挙げられる。

R³の定義において、フェニル基の置換基における炭素数 1~5 のアルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、ペンチルオキシ基等が挙げられ、総炭素数 2~5 のアルコキシカルボニル基としては、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、ブトキシカルボニル基等が挙げられ、炭素数 1~3 のアルキルメルカプト基としては、メチルメルカプト基、エチルメルカプト基、プロピルメルカプト基等が挙げられ、炭素数 1~4 のアルキルアミノ基としては、メチルアミノ基、エチルアミノ基、プロピルアミノ基、ブチルアミノ基等が挙げられ、総炭素数 2~8 のジアルキルアミノ基としては、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジプロピルアミノ基、ジブチルアミノ基等が挙げられる。

本発明の医薬の有効成分として好適に用いられる化合物 (I) として、例えば、以下に示す化合物が挙げられる。

- 3-メチル-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン；
- 3-メチル-1-(2-メチルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン；
- 3-メチル-1-(3-メチルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン；
- 3-メチル-1-(4-メチルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン；
- 3-メチル-1-(3,4-ジメチルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン；
- 1-(4-エチルフェニル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン；
- 3-メチル-1-(4-プロピルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン；
- 1-(4-ブチルフェニル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン；
- 1-(3-トリフルオロメチルフェニル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン；

1 - (4 - トリフルオロメチルフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (2 - メトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3 - メトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - メトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - エトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

3 - メチル - 1 - (4 - プロポキシフェニル) - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - ブトキシフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (2 - クロロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3 - クロロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - クロロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3, 4 - ジクロロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - ブロモフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - フルオロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (3 - メチルメルカプトフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - メチルメルカプトフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

4 - (3 - メチル - 5 - オキソ - 2 - ピラゾリン - 1 - イル) 安息香酸 ;

1 - (4 - エトキシカルボニルフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - (4 - ニトロフェニル) - 3 - メチル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

3 - エチル - 1 - フェニル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

1 - フェニル - 3 - プロピル - 2 - ピラゾリン - 5 - オン ;

- 1, 3-ジフェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3-フェニル-1-(p-トリル)-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(4-メトキシフェニル)-3-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(4-クロロフェニル)-3-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3, 4-ジメチル-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 4-イソブチル-3-メチル-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 4-(2-ヒドロキシエチル)-3-メチル-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3-メチル-4-フェノキシ-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3-メチル-4-フェニルメルカプト-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3, 3', 4, 5, 6, 7-ヘキサヒドロ-2-フェニル-2H-インダゾール-3-オン ;
- 3-(エトキシカルボニルメチル)-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1, 3-ジメチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-エチル-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-ブチル-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(2-ヒドロキエチル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-シクロヘキシル-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-ベンジル-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(α -ナフチル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-メチル-3-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 3-メチル-1-(4-メチルフェニル)-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(4-ブチルフェニル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
- 1-(4-メトキシフェニル)-3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;

- 1- (4-ブトキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-クロロフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (3, 4-ジヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (2-ヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (3-ヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (3, 4-ヒドロキシフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ヒドロキシフェニル) - 3-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ヒドロキシメチルフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-アミノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-メチルアミノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-エチルアミノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ブチルアミノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (4-ジメチルアミノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ;
1- (アセトアミドフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン ; 及び
1- (4-シアノフェニル) - 3-メチル-2-ピラゾリン-5-オン

本発明の医薬の有効成分としては、式 (I) で表される遊離形態の化合物のほか、生理学的に許容される塩を用いてもよい。生理学的に許容される塩としては、塩酸、硫酸、臭化水素塩、リン酸等の鉱酸との塩 ; メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、酢酸、グリコール酸、グルクロン酸、マレイン酸、フマル酸、シュウ酸、アスコルビン酸、クエン酸、サリチル酸、ニコチン酸、酒石酸等の有機酸との塩 ; ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属との

塩；マグネシウム、カルシウム等のアルカリ土類金属との塩；アンモニア、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン、N, N-ビス（ヒドロキシエチル）ピペラジン、2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール、エタノールアミン、N-メチルグルタミン、L-グルタミン等のアミンとの塩が挙げられる。また、グリシンなどのアミノ酸との塩を用いてもよい。

本発明の医薬の有効成分としては、上記式（I）で表される化合物若しくはその生理学的に許容される塩の水和物、又は上記式（I）で表される化合物若しくはその生理学的に許容される塩の溶媒和物を用いてもよい。溶媒和物を形成する有機溶媒の種類は特に限定されないが、例えば、メタノール、エタノール、エーテル、ジオキサン、テトラヒドロフランなどを例示することができる。また、上記式（I）で表される化合物は、置換基の種類により1以上の不斉炭素を有する場合があります、光学異性体又はジアステレオ異性体などの立体異性体が存在する場合があります。本発明の医薬の有効成分としては、純粋な形態の立体異性体、立体異性体の任意の混合物、ラセミ体などを用いてもよい。

式（I）で表される化合物はいずれも公知の化合物であり、特公平5-31523号公報などに記載された方法により当業者が容易に合成できる。

本発明の医薬の投与量は特に限定されないが、通常は、有効成分である式（I）で示される化合物の重量として一般に経口投与の場合には一日あたり0.1～1000mg/kg体重、好ましくは一日あたり0.5～50mg/kg体重、であり、非経口投与の場合には一日あたり0.01～100mg/kg体重、好ましくは0.1～10mg/kg体重である。上記投与量は1日1回又は2～3回に分けて投与するのが好ましく、年齢、病態、症状により適宜増減してもよい。

本発明の医薬としては、上記式（I）で表される化合物若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物をそのまま投与してもよいが、一般的には、有効成分である上記の物質と薬理学的及び製剤学的に許容される添加物を含む医薬組成物を調製して投与することが好ましい。

薬理学的及び製剤学的に許容しうる添加物としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶

解剤ないし溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等を用いることができる。

経口投与に適する医薬組成物には、添加物として、例えば、ブドウ糖、乳糖、D-マンニトール、デンプン、又は結晶セルロース等の賦形剤；カルボキシメチルセルロース、デンプン、又はカルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤又は崩壊補助剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチン等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム又はタルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール又は酸化チタン等のコーティング剤；ワセリン、流動パラフィン、ポリエチレングリコール、ゼラチン、カオリン、グリセリン、精製水、又はハードファット等の基剤を用いることができる。

注射あるいは点滴用に適する医薬組成物には、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール等の水性あるいは用時溶解型注射剤を構成しうる溶解剤又は溶解補助剤；ブドウ糖、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グリセリン等の等張化剤；無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等のpH調節剤等の添加物を用いることができる。

本発明の医薬の形態は特に限定されず、当業者に利用可能な種々の形態をとることができる。経口投与に適する医薬として、例えば、固体の製剤用添加物を用いて錠剤、散剤、顆粒剤、硬ゼラチンカプセル剤、坐剤、又はトローチ剤などを調製することができ、液状の製剤用添加物を用いてシロップ剤、乳剤、軟ゼラチンカプセル剤などを調製することができる。また、非経口投与に適する医薬として、注射剤、点滴剤、吸入剤、坐剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤などを調製することができる。なお、上記の式(I)の化合物を有効成分とする脳保護剤（点滴剤）が、すでに臨床において使用されているので（一般名「エダラボン」、商品名「ラジカット」：三菱ウェルファーマ株式会社製造・販売）、本発明の医薬において上記市販製剤をそのまま用いることができる。

本発明の医薬は、炎症性腸疾患に有効である。すなわち、本発明の医薬は、炎症性腸疾患を防止する予防剤としての作用、及び／又は炎症性腸疾患を正常な状

態に回復させる治療剤としての作用を有している。また、本発明の医薬はヒト潰瘍性大腸炎モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸において大腸炎による粘膜障害面積を有意に減少させたことから、腸粘膜保護剤として使用することができる。さらに本発明の医薬は、大腸粘膜内の炎症の指標であるミエロパーオキシダーゼ活性を抑制することができることから、ミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤として使用することができる。さらに、ミエロパーオキシダーゼは好中球活性化のマーカーとして知られていることから (Med Sci Sports Exerc. 2003 Feb; 35(2): 348-55)、ミエロパーオキシダーゼの活性化を抑制する本発明の医薬は好中球の活性化抑制剤として使用することもできる。

本明細書において、炎症性腸疾患とは、大腸や小腸などの消化管粘膜の表層の細胞に炎症が生じ、粘膜が欠損した結果、潰瘍やびらんを引き起こす原因不明の疾患をいい、具体的には、潰瘍性大腸炎、クローン病などが挙げられる。また、本明細書における潰瘍性大腸炎としては、特に難治性潰瘍性大腸炎、劇症性潰瘍性大腸炎が挙げられる。

また本明細書において、好中球の活性化抑制には好中球の浸潤抑制を含んでいる。

本発明の医薬の投与経路は特に限定されず、経口的または非経口的に投与することができる。例えば、上記各疾患の治療に先立って予防的に本発明の医薬を経口投与しておくことができ、注射若しくは点滴などの非経口的投与によって手術中又はその前後に予防的に投与することもできる。また、上記各疾患の患者に対しては、症状の悪化の防止ないしは症状の軽減などを目的として、静脈内、動脈内に注射により投与することもできる。

実施例

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明は下記の実施例により限定されるものではない。

合成例：3-メチル-1-フェニル-2-ピラゾリン-5-オン（以下、エダラ

ボンと称す) の合成

エタノール 50 ml 中にアセト酢酸エチル 13.0 g 及びフェニルヒドラジン 10.8 g を加え、3 時間還流攪拌した。反応液を放冷後、析出した結晶をろ取り、エタノールより再結晶して、表題の化合物 11.3 g を無色結晶として得た。

収率 67%

融点 127.5 ~ 128.5 °C

実施例 1

(1) 実験方法

① 材料

上記のようにして合成したエダラボンは少量の 1 N 水酸化ナトリウム溶液に溶解後、pH を中性付近に調整した。

② デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発大腸炎作製法

6 週齢 Sprague-Dawley 系雄性ラット(日本クレア株式会社)を用い、既報の方法に準じ(Araki, Y., et al., Scand J Gastroentero, 35, 1060-1067, 2000)、以下のようにして大腸炎を惹起させた。すなわち粉形食 MF (オリエンタル酵母工業株式会社) に 4% (w/w) のデキストラン硫酸ナトリウム (Dextran sulfate sodium, DSS: 分子量 5000、和光純薬工業株式会社、大阪) を加え 30g/日/匹の量で 8 日間摂取させた。DSS 投与開始直後よりエダラボン投与群はそれぞれ 1mg/kg/日、5mg/kg/日、20mg/kg/日のエダラボンを朝夕に分け背部皮下注射した。コントロール群は生理食塩水を同様に背部皮下注射した。

③ 肉眼的な大腸炎評価法

8 日後解剖を行った。心腔採血後、大腸(結腸および直腸)を摘出し、湿重量を測定した。肉眼的な大腸粘膜の障害の程度を既報の方法にて評価した(Araki, Y., et al., Scand J Gastroentero, 35, 1060-1067, 2000)。すなわち粘膜の色調変化(発赤)、血塊付着、粘膜皺壁の崩れ、浮腫、びらんを示す部分を面積測定した。

④ 組織学的大腸炎評価法

肛門側より 5 mm の部位の粘膜をカルノア液で 3 時間固定後、パラフィン包埋を

行った。その後 5 μ m 厚の組織切片を作製しヘマトキシリン-エオジン染色を行った。大腸炎のスコア化は、既報の方法に従った(Araki, Y., et al., Scand J Gastroentero, 35, 1060-1067, 2000)。すなわち、(i)粘膜上皮の欠損、(ii)クリプトの変形、(iii)炎症細胞浸潤の程度の3項目についてそれぞれその程度及び広がりに応じて、無し：0、軽度且つ限局：1、中等度且つ限局：2、中等度且つ広範囲：3、強度且つ広範囲：4と点数化した。この3項目の点数を合計しそのラットの組織学的大腸炎スコア（ダメージスコア）とした。

⑤ 大腸粘膜ミエロパーオキシダーゼ活性

大腸粘膜内の炎症の指標として、ミエロパーオキシダーゼ活性を既報の方法にて測定した(Araki, Y., et al., Clin Exp Immunol, 119, 264-269, 2000)。すなわち肛門側より 10mm の部位の粘膜をホモジネートし、その活性を H_2O_2 と o-dianisidin の反応による 460nm における吸光度の変化として観察した。

⑥ 大腸粘膜 malondialdehyde(MDA)、4-hydroxy-2(E)-nonenal(4-HNE)濃度

脂質過酸化は組織障害の重要な機序の一つである。MDA 並びに 4-HNE は組織内の多価不飽和脂肪酸の過酸化により産生される。よって大腸粘膜内の MDA 及び 4-HNE 濃度を測定し、組織内 reactive oxygen species(ROS)の状態の指標とした(Matsumura, N., et al., Pancreas, 22, 53-7, 2001)。すなわち、大腸粘膜を9倍量の 0.5%の TritonX-100 を含む 50mmol/l の Tris-buffer(pH8.0)でホモジネートし、アッセイキット Lipid peroxidation assay kit (Calbiochem, La Jolla, CA, U.S.A.)を用いて測定した。尚、ミエロパーオキシダーゼ活性、ならびに MDA 及び 4-HNE 濃度測定用のホモジネート中の蛋白量は Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad laboratories, CA)を用いて測定した。

⑦ 血漿中 interleukin-6(IL-6)濃度測定方法

全身的な炎症反応の指標として血漿中 interleukin-6 濃度を測定した。すなわち血液を 10000rpm で遠心後、その血漿中の interleukin-6 濃度を ELISA 法にて測定した(Rat IL-6 ELISA KIT, BioSource Europe, S.A., Belgium)。

⑧ 統計処理

結果は mean \pm SEM で表した。群間比較は Fisher's PLSD test で行った。ノンパ

ラメトリックなデータの比較は Kruskal-Wallis test と Dunn's Procedure As A Multiple Comparison Procedure で行った。p 値が 0.05 未満を有意差ありとした。

(2) 実験結果

① 肉眼的大腸炎評価

8 日間の DSS 投与によりエダラボン投与群、コントロール群ともに大腸炎が惹起された。しかし、エダラボン投与群 (1mg/kg 投与群、5mg/kg 投与群、20mg/kg 投与群) はいずれもコントロール群に比べて大腸湿重量が有意に低値を示した (図 1 (A))。同様に、エダラボン投与群ではいずれもコントロール群に比べて障害粘膜面積が有意に低値を示した (図 1 (B))。

② 組織学的大腸炎評価

図 2 に大腸組織の像を示す。(A) コントロール群 (×40)、(B) エダラボン 1mg/kg 投与群 (×40)、(C) エダラボン 5mg/kg 投与群 (×40)、(D) エダラボン 20mg/kg 投与群 (×40) である。コントロール群において、粘膜下層の著しい浮腫と炎症細胞浸潤を認めた。しかしエダラボン 1mg/kg、5mg/kg、20mg/kg 投与群においてはこれらの変化は抑制された。

障害の程度をスコア化すると、エダラボン投与群のダメージスコアは、いずれもコントロール群のダメージスコアに比べて低値を示した。特に、20mg/kg 投与群のダメージスコアはコントロール群に比べて有意に低値を示した (図 3 (A))。

③ 大腸粘膜ミエロパーオキシダーゼ活性

エダラボン投与群の大腸粘膜内のミエロパーオキシダーゼ活性はいずれもコントロール群のミエロパーオキシダーゼ活性に比べて低値を示した。特に、20mg/kg 投与群のミエロパーオキシダーゼ活性はコントロール群に比べて有意に低値を示した (図 3 (B))。

④ 大腸粘膜 MDA、4-HNE 濃度

エダラボン投与群の大腸粘膜内 MDA、4-HNE 濃度は、いずれもコントロール群の MDA、4-HNE 濃度に比べて低値を示した。しかし投与群間に有意差は認められなかった (図 4 (A))。

⑤ 血漿中 IL-6 濃度

エダラボン投与群の血漿中 IL-6 濃度は、いずれもコントロール群の IL-6 活性に比べて低値を示した。特に、20mg/kg 投与群の IL-6 濃度はコントロール群に比べて有意に低値を示した(図 4 (B))。

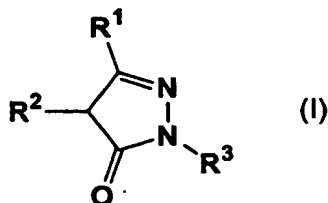
産業上の利用可能性

本発明の医薬は炎症性腸疾患の予防及び／又は治療に有用である。特に、本発明の医薬はヒト潰瘍性大腸炎モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸において大腸炎による粘膜障害面積を有意に減少させたことから、潰瘍性大腸炎患者一般、更には既存の薬剤に反応のない難治性や劇症の潰瘍性大腸炎患者に対する新たな治療薬として有用である。

本出願が主張する優先権の基礎となる出願である特願 2002-262324 の明細書に記載の内容は全て、本明細書の開示の一部として本明細書中に引用により取り込むものとする。

請求の範囲

1. 下記式 (I) :



(式中、R¹は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し；R³は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬。

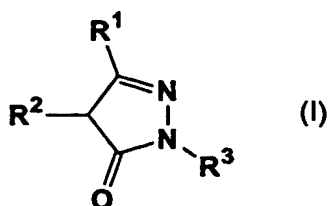
2. 式 (I) で示されるピラズロン誘導体が3-メチル-1-フェニル-2-ピラズリン-5-オンである請求項1に記載の医薬。

3. 炎症性腸疾患が、潰瘍性大腸炎又はクローン病である請求項1又は2に記載の医薬。

4. 潰瘍性大腸炎が、難治性潰瘍性大腸炎又は劇症性潰瘍性大腸炎である請

求項 3 に記載の医薬。

5. 下記式 (I) :

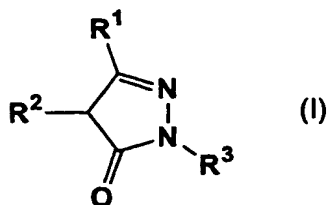


(式中、R¹は、水素原子、アリール基、炭素数 1～5 のアルキル基又は総炭素数 3～6 のアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキル基又は炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数 3～5 のアルキレン基を表し；R³は、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアルコキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む腸粘膜保護剤。

6. 式 (I) で示されるピラゾロン誘導体が 3-メチルー 1-フェニルー 2-ピラゾリン-5-オンである請求項 5 に記載の腸粘膜保護剤。

7. 下記式 (I) :

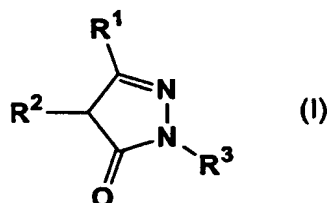


(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む、好中球の活性化抑制剤。

8. 式(I)で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリン-5-オンである請求項7に記載の好中球の活性化抑制剤。

9. 下記式(I)：



(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭

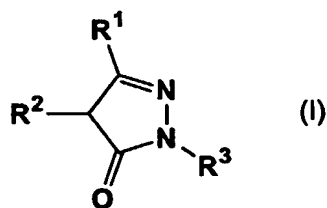
炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアルコキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物を有効成分として含む、ミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤。

10. 式 (I) で示されるピラゾロン誘導体が 3-メチルー 1-フェニルー 2-ピラゾリン-5-オンである請求項 9 に記載のミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤。

11. ミエロパーオキシダーゼが大腸粘膜のミエロパーオキシダーゼである、請求項 9 又は 10 に記載のミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤。

12. 下記式 (I) :



(式中、R¹は、水素原子、アリール基、炭素数 1～5 のアルキル基又は総炭素数 3～6 のアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキル基又は炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数 3～5 のアルキレン基を表し；R³は、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5

のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアルコキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

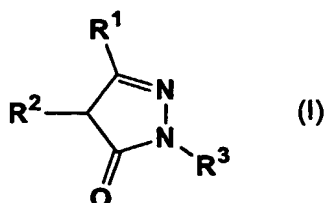
で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の予防及び／又は治療有効量をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、炎症性腸疾患の予防及び／又は治療方法。

13. 式 (I) で示されるピラズロン誘導体が 3-メチルー 1-フェニルー 2-ピラズリン-5-オンである請求項 12 に記載の方法。

14. 炎症性腸疾患が、潰瘍性大腸炎又はクローン病である請求項 12 又は 13 に記載の方法。

15. 潰瘍性大腸炎が、難治性潰瘍性大腸炎又は劇症性潰瘍性大腸炎である請求項 14 に記載の方法。

16. 下記式 (I) :



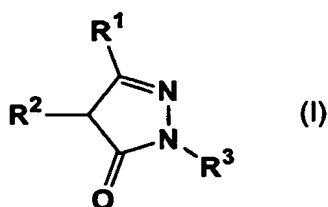
(式中、R¹は、水素原子、アリール基、炭素数 1～5 のアルキル基又は総炭素数 3～6 のアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキル基又は炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数 3～5 のアルキレン基を表し；R³は、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアル

コキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の有効量をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、腸粘膜保護方法。

17. 式 (I) で示されるピラズロン誘導体が 3-メチルー 1-フェニルー 2-ピラズリン-5-オンである、請求項 16 に記載の方法。

18. 下記式 (I) :

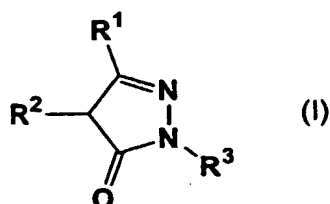


(式中、R¹は、水素原子、アリール基、炭素数 1～5 のアルキル基又は総炭素数 3～6 のアルコキシカルボニルアルキル基を表し；R²は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキル基又は炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、R¹及びR²は、共同して炭素数 3～5 のアルキレン基を表し；R³は、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアルコキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシ基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の有効量をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、好中球の活性化抑制方法。

19. 式(I)で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリン-5-オンである請求項18に記載の方法。

20. 下記式(I):



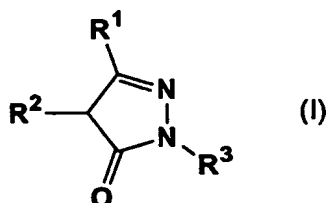
(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の有効量をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、ミエロパーオキシダーゼ活性の抑制方法。

21. 式(I)で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリン-5-オンである請求項20に記載の方法。

22. ミエロパーオキシダーゼが大腸粘膜のミエロパーオキシダーゼである、請求項20又は21に記載の方法。

23. 炎症性腸疾患の予防及び／又は治療のための医薬の製造のための下記式(I)：



(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用。

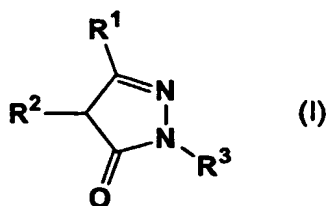
24. 式(I)で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリン-5-オンである請求項23に記載の使用。

25. 炎症性腸疾患が、潰瘍性大腸炎又はクローン病である請求項23又は24に記載の使用。

26. 潰瘍性大腸炎が、難治性潰瘍性大腸炎又は劇症性潰瘍性大腸炎である

請求項 25 に記載の使用。

27. 腸粘膜保護剤の製造のための下記式 (I) :

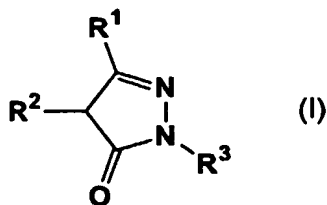


(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数 1～5 のアルキル基又は総炭素数 3～6 のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキル基又は炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数 3～5 のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 5～7 のシクロアルキル基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数 1～5 のアルキル基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～3 のヒドロキシアルキル基、総炭素数 2～5 のアルコキシカルボニル基、炭素数 1～3 のアルキルメルカプト基、炭素数 1～4 のアルキルアミノ基、総炭素数 2～8 のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる 1～3 個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用。

28. 式 (I) で示されるピラズロン誘導体が 3-メチルー 1-フェニルー 2-ピラズリン-5-オンである請求項 27 に記載の使用。

29. 好中球の活性化抑制剤の製造のための下記式 (I) :

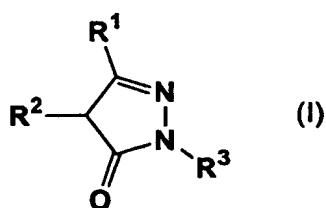


(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラズロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用。

30. 式(I)で示されるピラズロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラズリン-5-オンである請求項29に記載の使用。

31. ミエロパーオキシダーゼ活性抑制剤の製造のための下記式(I)：



(式中、 R^1 は、水素原子、アリール基、炭素数1～5のアルキル基又は総炭素数3～6のアルコキシカルボニルアルキル基を表し； R^2 は、水素原子、アリールオキシ基、アリールメルカプト基、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～3のヒドロキシアルキル基を表し；あるいは、 R^1 及び R^2 は、共同して炭素数3～5のアルキレン基を表し； R^3 は、水素原子、炭素数1～5のアルキル基、炭素数5～7のシクロアルキル基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、ベンジ

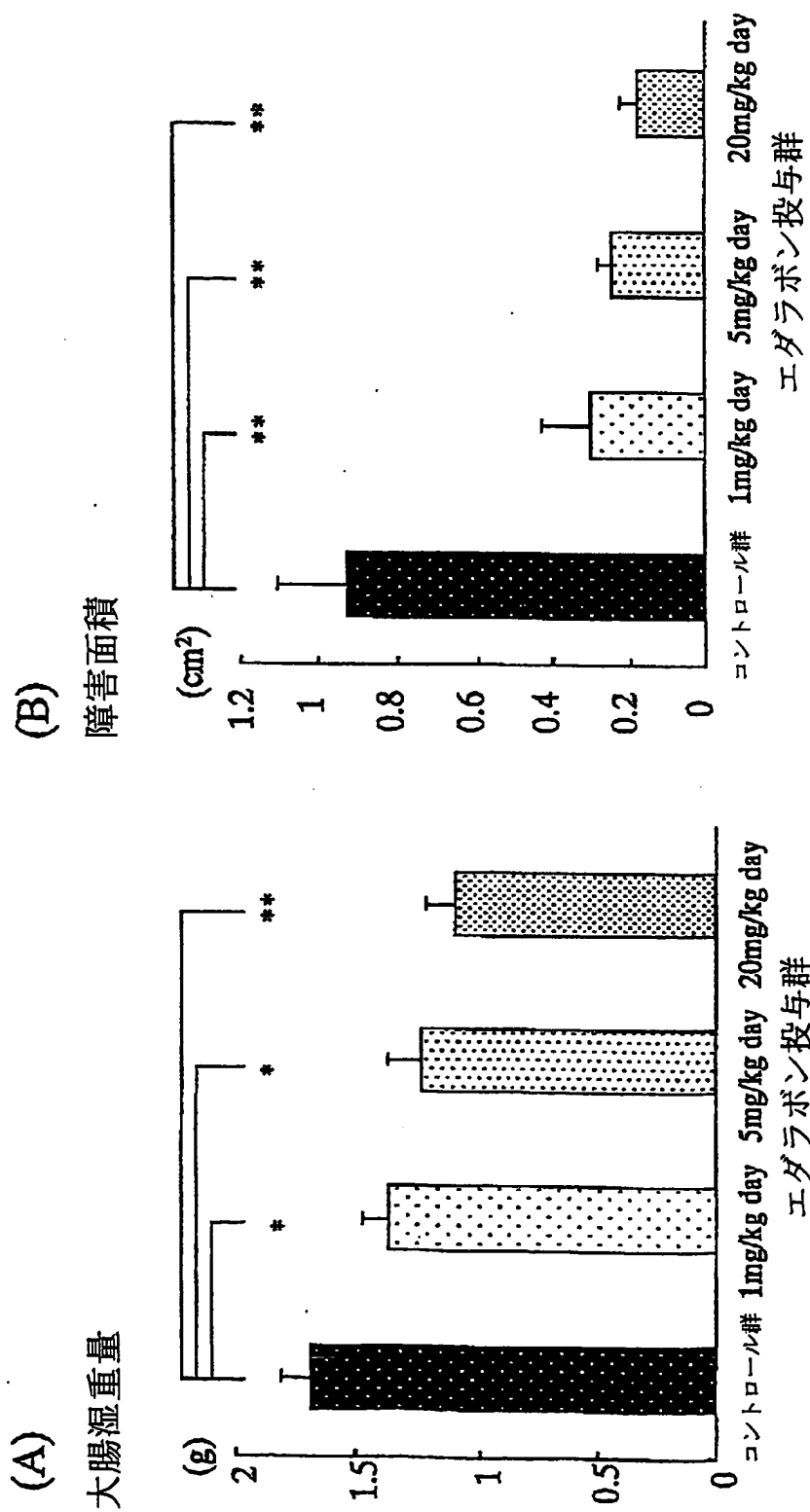
ル基、ナフチル基、フェニル基、又は炭素数1～5のアルキル基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～3のヒドロキシアルキル基、総炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、炭素数1～3のアルキルメルカプト基、炭素数1～4のアルキルアミノ基、総炭素数2～8のジアルキルアミノ基、ハロゲン原子、トリフルオロメチル基、カルボキシル基、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アミノ基及びアセトアミド基からなる群から選ばれる同一若しくは異なる1～3個の置換基で置換されたフェニル基を表す。)

で示されるピラゾロン誘導体若しくはその生理学的に許容される塩、又はそれらの水和物若しくは溶媒和物の使用。

32. 式(I)で示されるピラゾロン誘導体が3-メチルー1-フェニルー2-ピラゾリン-5-オンである請求項31に記載の使用。

33. ミエロパーオキシダーゼが大腸粘膜のミエロパーオキシダーゼである、請求項31又は32に記載の使用。

図 1



* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

図 2

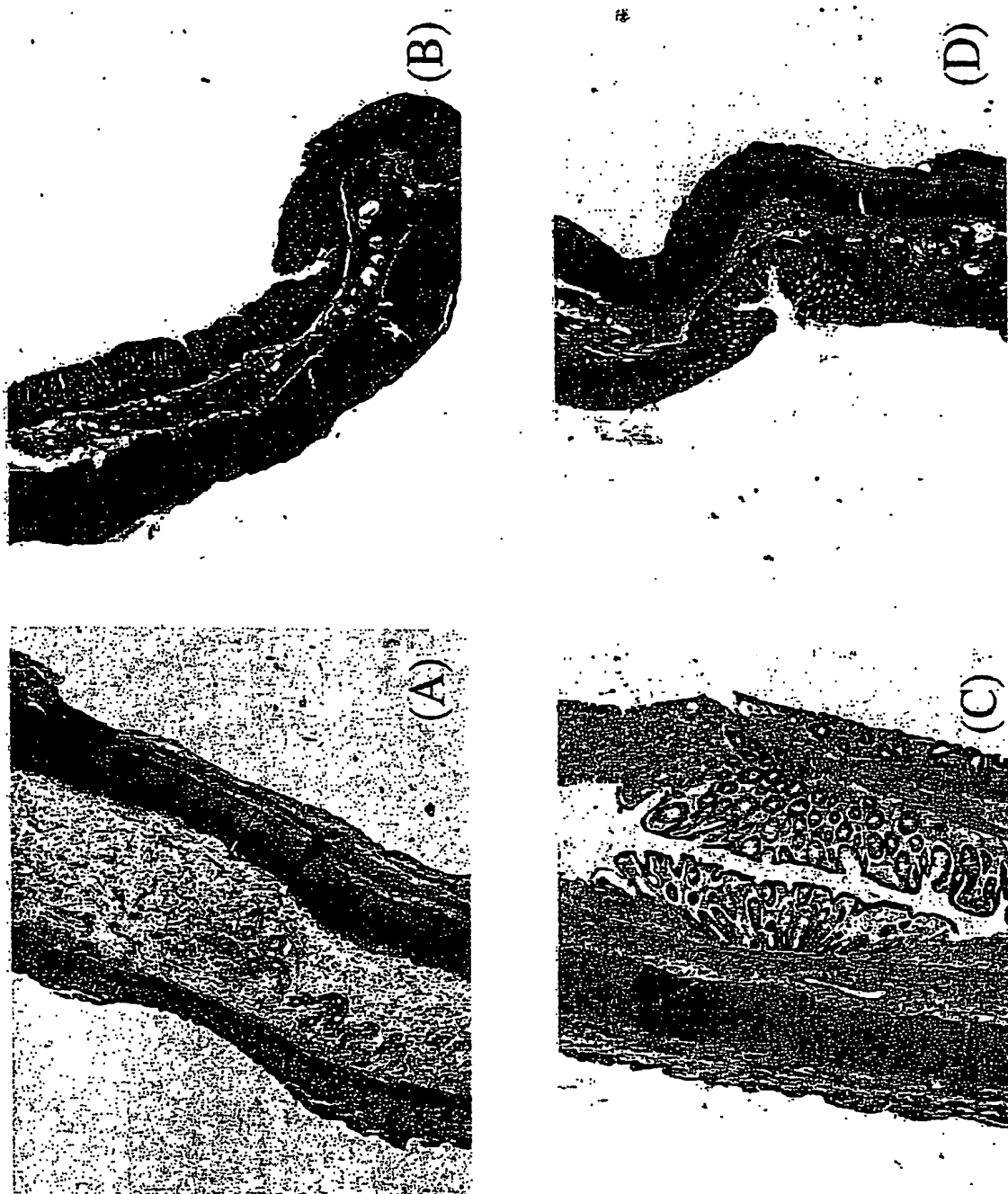


図 3

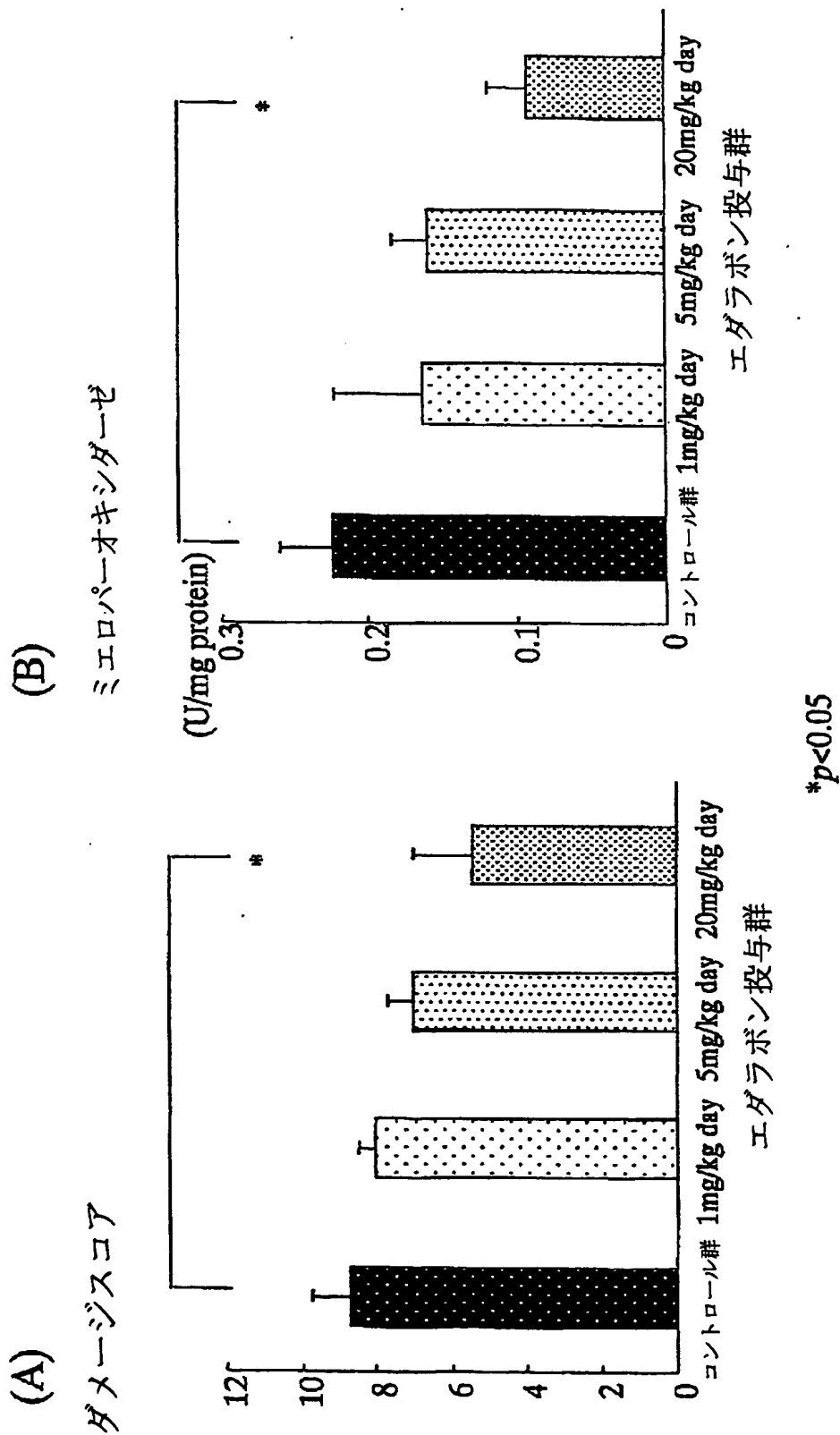
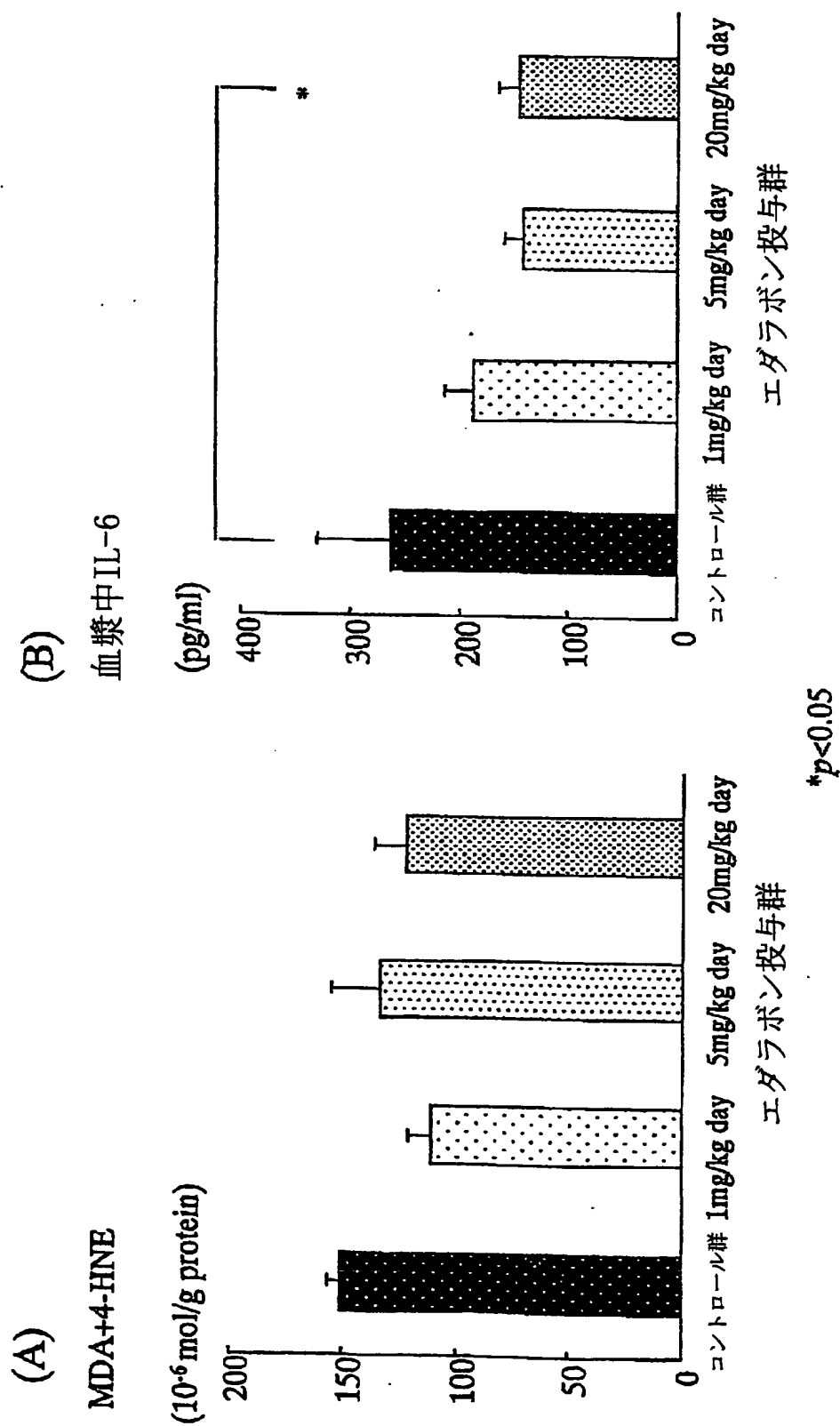


図 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11487

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D231/20, A61K31/4152, A61P1/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D231/20, A61K31/4152, A61P1/00, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 208874 A1 (MITSUBISHI KASEI CORP.), 21 January, 1987 (21.01.87), & DK 227186 A & JP 62-108814 A & US 4857542 A & US 35801 E	1-11, 23-33
Y	Kentaro ANDO et al., "Shinki Radical Shokyoyaku 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazololin-5-one (MCI-186) no Ippan Yakuri Sayo", Japanese Pharmacology & Therapeutics, Vol.25, suppl.7, pages 213 to 243, (1997)	1-11, 23-33
Y	Toshikazu YOSHIKAWA et al., "Shokaki Shikkan to Kassei Sanso-Free Radical Kakuron-Kakubyotai eno Kanyo to Sono Taisaku (2) Cho Shikkan to Kassei Sanso-Free Radical", Clinical Gastroenterology, Vol.10, No.6, pages 765 to 772, (1995)	1-11, 23-33

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
31 October, 2003 (31.10.03)

Date of mailing of the international search report
18 November, 2003 (18.11.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11487

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kazuya MAKIYAMA, "Enshosei Cho Shikkan ni okeru Karyukyu no Kasseika to Soshiki Shogai", Igaku no Ayumi, Vol.178, No.9, pages 567 to 570, (1996)	1-11,23-33
Y	DYKENS, J.A. et al., "Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine Excretion as a Non-Invasive Marker of Neutrophil Activation in Animal Models of Inflammatory Bowel Disease", Scand.J.Gastroenterol., 33(6), pp.628-36, (1998)	1-11,23-33
Y	Norimasa YOSHIDA et al., "Tokushu Free Radical to Byotai Shikkan oyobi Yakuzai (3) Free Radical to Shikkan", Nichibyo Yakushi, 37(2), pp.201-3, 'B. Enshosei Cho Shikkan' no Ko	1-11,23-33
Y	CUZZOCREA, S. et al., "Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis", Eur.J.Pharmacol., 406(1), pages 127 to 137, (2000)	1-11,23-33
Y	HOSHINO, J. et al., "Effect of lecithinized-superoxide dismutase (PC-SOD) on a rat colitis model induced by trinitrobenzene sulfonic acid in combination with ischemia", Ensho, 20(3), pages 237 to 244, (2000)	1-11,23-33
Y	Norimasa YOSHIDA et al., "Tokushu Shokakan to Bisho Junkan Shokakan Bisho Junkan to oxidative stress", Blood Vessel & Endothelium, 8(5), pages 479 to 486, '2) Enshosei Cho Shikkan' no Ko	1-11,23-33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11487

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12 to 22
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in claims 12 to 22 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07D231/20, A61K31/4152, A61P1/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07D231/20, A61K31/4152, A61P1/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP 208874 A1 (MITSUBISHI KASEI CORPORATION) 1987.01.21 & DK 227186 A & JP 62-108814 A & US 4857542 A & US 35801 E	1-11, 23-33
Y	安東賢太郎, 他, 『新規ラジカル消去薬3-methyl-1-phenyl-2-pyrazololin-5-one (MCI-186) の一般薬理作用』、 薬理と治療 (Japanese Pharmacology & Therapeutics) Vol.25 suppl.7 pp213-243 (1997)	1-11, 23-33

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

31.10.03

国際調査報告の発送日

18.11.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

守安 智

4 C

8 5 1 9

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	吉川敏一, 他, 『消化器疾患と活性酸素・フリーラジカル 各論-各病体への関与とその対策 (2) 腸疾患と活性酸素・フリーラジカル』、 臨牀消化器内科 Vol.10 No.6 pp765-772 (1995)	1-11, 23-33
Y	牧山和也, 『炎症性腸疾患における顆粒球の活性化と組織障害』、 医学のあゆみ Vol.178 No.9 pp567-570 (1996)	1-11, 23-33
Y	DYKENS, J. A., 他, "Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine Excretion as a Non-Invasive Marker of Neutrophil Activation in Animal Models of Inflammatory Bowel Disease", Scand. J. Gastroenterol 33(6) pp628-36 (1998)	1-11, 23-33
Y	吉田憲正, 他, 『特集 フリーラジカルと病態・疾患および薬剤 ③ フリーラジカルと疾患』 日病薬誌 37(2) pp201-3 「B. 炎症性腸疾患」の項	1-11, 23-33
Y	CUZZOCREA, S., 他, "Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis", Eur. J. Pharmacol. 406(1) pp127-137 (2000)	1-11, 23-33
Y	HOSHINO, J, 他, "Effect fo lecithinized-superoxide dismutase (PC-SOD) on a rat colitis model induced by trinitrobenzene sulfonic acid in combination with ischemia", 炎症 20(3) pp237-244 (2000)	1-11, 23-33
Y	吉田憲正, 他, 『特集 消化管と微小循環 消化管微小循環と oxidative stress』 血管と内皮 8(5) pp479-486 「2) 炎症性腸疾患」の項	1-11, 23-33

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 12-22 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
ヒトの治療方法に係る発明が記載されている。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。